

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005 年 7 月 28 日 (28.07.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/067974 A1

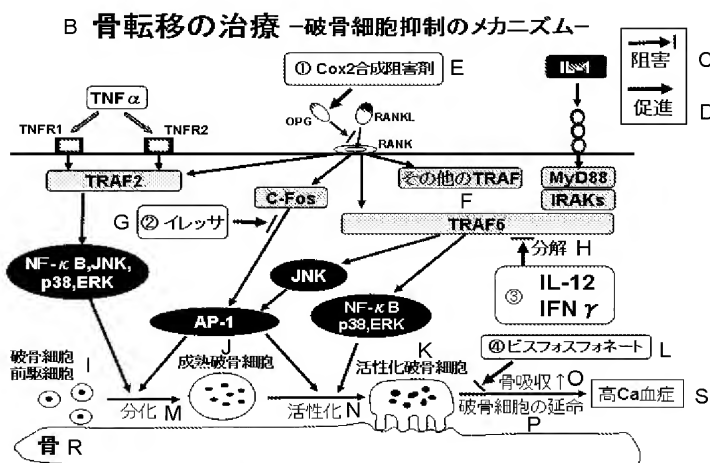
(51) 国際特許分類: A61K 45/06, A61P 35/04
(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/000527
(22) 国際出願日: 2005 年 1 月 18 日 (18.01.2005)
(25) 国際出願の言語: 日本語
(26) 国際公開の言語: 日本語
(30) 優先権データ:
特願2004-011024 2004 年 1 月 19 日 (19.01.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社
オリエンタキャンサーセラピー (ORIENT CANCER
THERAPY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1810015 東京都三鷹
市大沢 1 丁目 1 番 2 1 号 Tokyo (JP).
(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 八木田 旭邦
(YAGITA, Akikuni) [JP/JP]; 〒1810015 東京都三鷹市
大沢 1 丁目 1 番 2 1 号 Tokyo (JP).
(74) 代理人: 庄司 隆 (SHOJI, Takashi); 〒1010032 東京都
千代田区岩本町 3 丁目 2 番 1 0 号 SN 岩本町ビル
6 階 Tokyo (JP).

[続葉有]

(54) Title: DRUG FOR REGULATING CANCER METASTASIS TO BONE

(54) 発明の名称: がんの骨転移の抑制剤



B TREATMENT OF METASTASIS
TO BONE -MECHANISM OF
REGULATING OSTEOCLASTS-
C INHIBITION
D PROMOTION
E COX 2 SYNTHESIS INHIBITOR
F OTHER TRAF
G IRESSA
H DECOMPOSITION
I OSTEOCLAST PRECURSORS

J MATURED OSTEOCLASTS
K ACTIVATED OSTEOCLASTS
L BISPHOSPHONATE
M DIFFERENTIATION
N ACTIVATION
O BONE RESORPTION
P EXTENSION OF OSTEOCLASTS' LIFE
R BONE
S HYPER CALCEMIA

(57) Abstract: To achieve an improved effect of regulating cancer metastasis to bone, it is intended to provide a means of completely regulating cancer metastasis to bone by repeatedly selecting drugs. Use is concomitantly made of a substance inhibiting the activation of osteoclasts by decomposing an osteoclast activation signaling molecule TRAF6 together with a substance regulating the differentiation of osteoclast precursors into matured osteoclasts and/or a bone resorption inhibitor and/or a Cox2 synthesis inhibitor. It is found out that the concomitant use is highly useful in regulating cancer metastasis to bone. Moreover, it is intended to provide a drug for regulating cancer metastasis to bone characterized by concomitantly containing an IL-12 production inducer as a substance inhibiting the activation of osteoclasts by decomposing an osteoclast activation signaling molecule TRAF6 together with a tyrosine kinase inhibitor as a

substance regulating the differentiation of osteoclast precursors into matured osteoclasts and/or a bisphosphonate as a bone resorption inhibitor and/or a Cox2 synthesis inhibitor for inhibiting the stimulation of RANKL/RANK receptor.

(57) 要約: 癌の骨転移抑制のより有効な効果をもたらすことを目的とし、薬剤の選択を重ね、癌の骨転移の抑制の完全化を達成するための手段を提供することを課題とする。破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及

[続葉有]

WO 2005/067974 A1



(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ,

BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

び／又はCox2合成阻害剤を併用することによる。この併用はがんの骨転移の抑制に極めて高い有用性があることを見出した。さらに、破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質としてのIL-12産生誘導剤と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質としてのチロシンキナーゼ阻害剤及び／又は骨吸収の阻害剤としてのビスフォスフォネート及び／又はRANKL／RANK受容体の刺激を阻害するためにCox2合成阻害剤を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤による。

明 細 書

がんの骨転移の抑制剤

技術分野

[0001] 本発明は、癌治療の新たな領域を提供するものである。すなわち、新規ながんの骨転移の予防治療方法のためのがんの骨転移の抑制剤を提供するものである。

[0002] 本出願は、参照によりここに援用されるところの、日本特許出願特願2004-011024号からの優先権を請求する。

背景技術

[0003] 骨は癌の転移好発臓器である。骨にはTGF β やIGFsなどの増殖因子が豊富に蓄えられている。これらの増殖因子は破骨細胞が骨を吸収する際に放出され、骨に定着しはじめた癌細胞の増殖および代謝を保証する。刺激された癌細胞は、破骨細胞あるいは骨芽細胞を活性化するサイトカイン、増殖因子を産出し、骨破壊性骨転移あるいは造骨性骨転移を成立、増長させる。このように骨転移は癌細胞と骨との共同作業によって成立する病変と捉えることができる。この関係を断ち切ることが骨転移を効果的に抑制するアプローチとなる(非特許文献1)。悪性腫瘍に伴う骨障害は2種類ある。その1つは癌細胞が骨に直接転移し転移局所の破骨細胞の形成を促進しその増殖と活性化を起こす場合である。もう1つは癌細胞が直接骨に転移していなくても、癌細胞から産生されるPTH-rP(Parathyroid Hormone Related Protein)が破骨細胞を増殖および活性化させる場合である。いずれの病態であっても破骨細胞の形成や増殖、活性化さらには延命によって全身の骨組織を脆弱化せしめ、その結果として疼痛あるいは骨折を合併するといった骨障害が起こる。骨転移は激しい痛みを伴うのみならず運動障害をも伴う。また、骨折した場合は更に症状は激烈である。さらに骨転移の結果として発症する高カルシウム血症は直接生命を脅かすことも知られている。

この骨転移に対する現時点での治療法としては外科手術、放射線治療、抗癌剤、ホルモン療法などが挙げられるが、いずれの治療法も一時的あるいは局所的であり、極めて限定的である。また、多発骨転移を合併した場合は、殆ど無力である。骨転移あるいは骨障害が多い疾患は多発性骨髄腫、乳癌、前立腺癌、頭頸部癌、肺癌、腎

癌、卵巣癌、悪性リンパ腫、胃癌などである。

[0004] 本発明者の医学博士八木田は、先にガン治療における画期的な手法として、インターロイキン12(IL-12)を生体内で誘発する物質の有用性に着目し、キノコ菌糸体加工物がその機能を有することを発見し、新免疫療法(Novel Immunotherapy for cancer)(NITC)ともいうべきガン治療法を確立した。従来IL-12は、抗ガン効果があるものの生体内にIL-12自体を直接投与した場合には副作用を生じるために患者が治療に耐えられないという事実があり、それ自体を抗ガン剤として使用できなかった。しかし、八木田が報告したキノコ菌糸体加工物を含む製剤は、ガンの治療において著しい治癒・延命効果を達成した。つまり八木田は、IL-12を生体内で誘発できる有効量のキノコ菌糸体加工物を投与することにより、ガンの治療目的を達成した(特許文献1)。

[0005] IL-12は、 $\text{TNF } \alpha \rightarrow \text{IFN } \gamma \rightarrow \text{IL-12} \rightarrow \text{CTL}$ 活性というルートでキラーT細胞の活性化効果と増強効果をもつ。つまりIL-12の産生増強は、キラーT細胞の活性化と増強により抗ガン効果が期待される。

[0006] ガンの分子標的治療剤が新タイプの制癌剤として従来の細胞標的治療剤と対比してその意義が着目されている。そのなかでも特にシグナル伝達阻害作用を有する薬剤としてチロシンキナーゼ阻害剤は注目されている。ZD1839(イレッサ:登録商標 アストラゼネカ)はEGFR(上皮成長因子受容体)チロシンキナーゼのATP結合部位におけるATPとの競合作用を有し、チロシンキナーゼの自己リン酸化を抑制することでチロシンキナーゼ活性を抑制する。その結果、EGFRのもつ増殖、浸潤、分化、転移に関連するシグナル伝達[EGFRの細胞外ドメインに上皮成長因子(EGF)等のリガンドが結合することにより、細胞内ドメインにあるEGFRチロシンキナーゼが活性化し、EGFRの自己リン酸化および種々の細胞内標的たんぱく質のリン酸化を引き起こすことにより細胞表面から核への増殖シグナルが伝達され、癌細胞表面から核への増殖シグナルが伝達され、癌細胞の増殖、浸潤、転移、血管新生を起こす]を遮断することにより抗癌作用を発現する。IMC-C225(EGFR標的モノクローナル抗体)は細胞膜表面のEGFRレセプター部分を認識し、EGFRの自己リン酸化を抑制することでチロシンキナーゼ活性を阻害する。ハーセプチンはEGFRと相同性をもつHer2/Neuに対する

モノクローナル抗体であり、STI-571(グリベック)はBCR-Ablのチロシンキナーゼ活性の阻害とc-kitのチロシンキナーゼ活性の阻害能を有する(非特許文献2)。

- [0007] このような分子標的治療剤は新メカニズムのガン治療薬として着目されるが、その効果はいまだ革命的とはいえない。たとえば、ZD1839(イレッサ)はアストラゼネカ社が新規に開発した強力かつ選択的なEGFRチロシンキナーゼ阻害剤であり、ヒトでもその有用性が判明している。しかし非小細胞肺癌や前立腺癌などでの臨床成績はPR(部分寛解)が10〜20数%で、CR(完全寛解)は全くないと言ってもよいが、あっても極くまれで完全寛解まで4ヶ月以上の期間がかかっていた。そこでZA1839(イレッサ)と各種抗癌剤との併用療法が試みられているものの現時点では相加あるいは相乗効果は得られていない。

- [0008] 特許文献1:特開平10-139670号公報

非特許文献1:実験医学 Vol.20 No.17(増刊)2002

非特許文献2:血液・免疫・腫瘍 Vol. 7 No.3 2002-7

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0009] 本発明は、癌の骨転移抑制のより有効な効果をもたらすことを目的とし、薬剤の選択を重ね、癌の骨転移の抑制率を上げ、完全な癌の骨転移の抑制手段を提供するものである。

課題を解決するための手段

- [0010] 本発明は、破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質を中心として、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又はRANKL／RANK受容体の刺激を阻害するためにCox2合成阻害剤を併用することはがんの骨転移の抑制に極めて高い有用性があることを見出し本発明を完成した。

- [0011] すなわち本発明は、

「1. 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又はCox2合成阻害剤を併用することを特徴とするがんの骨

転移の抑制剤。

2. 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質としてのIL-12産生誘導剤と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質としてのチロシンキナーゼ阻害剤及び／又は骨吸収の阻害剤としてのビスフォスフォネート及び／又はRANKL／RANK受容体の刺激を阻害するためにCox2合成阻害剤を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤。

3. 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又は破骨細胞形成抑制因子の産生亢進物質を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤。

4. チロシンキナーゼ阻害剤が、以下の少なくとも1の受容体に対する選択的標的作用を有する前項第1～3項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤。

HER2/neu、HER3、HER4、c-kit、PDGFR、bcr-abl、EGFR

5. IL-12産生誘導剤が、 β 1,3/1,6グルカン構造を有する物質である前項第1～4項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤。

6. 前項第1～5項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤による、がんの骨転移の予防治療方法。」

からなる。

発明の効果

[0012] 本発明では、破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質を中心として、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又はCox2合成阻害剤の併用による極めて高いがんの骨転移の抑制について臨床的成果を達成した。本発明は、破骨細胞の分化、誘導の抑制はTNF α 、RANKL、IL-1等から入る細胞内伝達系をブロックすることに基づき、その具体的方法は4つに大別される(図6)。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]破骨細胞の形成の図式である。

[図2]NITC療法の図式である。

[図3]破骨細胞の形成を抑制して骨障害を治癒の図式である。

[図4]臨床例を示す。(実施例1)

[図5]臨床例を示す。(実施例2)

[図6]本発明の療法の図式である。

発明を実施するための最良の形態

[0014] 以下、本発明を詳しく説明するが、本明細書中で使用されている技術的および科学的用語は、別途定義されていない限り、本発明の属する技術分野において通常の知識を有する者により普通に理解される意味を持つ。

[0015] 本発明者の医学博士八木田のガン新免疫療法(NITC)とは、4つの異なる作用機序を組み合わせてのことからなる治療手段である。

第一の作用機序は、血管新生阻害物質(ベターシャーク)を投与してガンへの血流を障害してガン縮小をはかる方法である。これは血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を測定することでその効果の判定が可能である。血管新生阻害作用はVEGF値のマイナス(負)値(-VEGF)で評価できる。このVEGF値の代わりにFGF、HGFなどのその他の血管増殖因子を用いることでも、血管新生阻害能を評価することが可能である。またVEGFの代わりに血管新生阻害因子の正数値でもその評価が可能である(例えばエンドスタチン値)。

[0016] 第二の作用機序は、 β 1,3グルカン構造を担持する化合物を投与してTh1サイトカイン($\text{TNF } \alpha$ 、 $\text{IFN } \gamma$ 、 IL-12)を誘導してCTLを活性化する方法である。CTL活性は CD8(+) パーフォリン産生能力で判定が可能であるが、この CD8(+) パーフォリン値には細胞障害性T細胞(CTL)と免疫抑制性T細胞(STC; Suppressor T cell)とがあり、前者はガン細胞を障害し、後者の活性化は結果的にガンの増殖につながる。したがってその絶対値では評価はできない。しかし前者は $\text{IFN } \gamma$ が10 IU/ml以上かもしくは IL-12 値が7.8 pg/ml以上であればCTLであり、 $\text{IFN } \gamma$ と IL-12 が低値であればSTCと判定される。そこでCTL活性は、 $\text{IFN } \gamma$ 産生能力($\text{IFN } \gamma$ 値)もしくは IL-12 産生能力(IL-12 値)で評価が可能である。

[0017] 第三及び第四の作用機序である α 1,3グルカン構造を担持する化合物の投与によって活性化されるeffector細胞はNK細胞とNKT細胞である。このNKとNKT細胞とは

NKR-P1(NK細胞受容体CD161(+))を共有しており、前者のNK細胞はCD3(-)CD161(+)の表面マーカーでその細胞数が測定可能であり、その活性化はCD3(-)CD161(+)パーフォリン産生能力で判定が可能である。一方後者のNKT細胞はCD3(+)CD161(+)でその細胞数は測定が可能となり、そのパーフォリン産生能力(NKTP(+))と記す)でNKT細胞の活性化は測定可能である。

[0018] したがってガン治療における新免疫療法(NITC)であっても一般的な免疫療法であっても以下の測定項目でそれぞれのeffector細胞もしくは血管新生阻害作用を評価することが可能である。具体的には、CTL活性はIFN γ あるいはIL-12の産生誘導能力で評価が可能である。NK細胞の活性化はCD3(-)CD161(+)もしくはCD3(-)CD161(+)パーフォリン値でも評価可能である。NKT細胞の活性化はCD3(+)CD161(+)もしくはCD3(+)CD161(+)パーフォリン値(NKTP値)でも評価が可能である。

[0019] 本発明は、上記の新免疫療法におけるIL-12産生誘導剤に加えて、チロシンキナーゼ阻害剤及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又はCox2合成阻害剤を併用することによる。

本発明で使用するIL-12産生誘導剤は、例えば、 β 1,3グルカン構造を持つ茸菌糸体組成物製剤(例えばILX商品名:東西医薬研究所、ILY商品名:セイシン企業)、或は β 1,3グルカン構造を持つ各種酵母(海洋性酵母、パン酵母、NBGTM)が利用できる。特に海洋性酵母が好ましい。本発明で使用するIL-12産生誘導剤は、破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用をもっており、このような機能をもつ物質は広く利用可能である。本発明で使用するIL-12産生誘導剤はその産生誘導活性を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる処方にて用いられる。すなわち、その活性化を誘導または増強し、さらに活性化を維持できる投与量、ならびに投与期間を選択して用いられる。具体的には、その投与量は、CTL活性化剤(IL-12産生誘導剤、INF γ 産生誘導剤)である β -1,3グルカン構造を持つ化合物は1g〜10g/日程度、好ましくは3g〜6g/日程度である。また、投与期は一般的には10日間〜24ヶ月間、投与頻度は隔日又は1〜3回/日で、好ましくは連日投与である。当該CTL活性化剤(IL-12産生誘導剤、INF γ 産生誘導剤)は、好

適には経口摂取される。

[0020] IL-12産生誘導剤と破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解の関連性について説明する。悪性腫瘍患者の骨障害は、破骨前駆細胞がRANKL(サイトカインの1種)で刺激されたRANK受容体と接着することで破骨細胞内のTRAF6が増殖し、次いでシグナル伝達系のNF- κ BあるいはJNK遺伝子から形成されるAP-1を介して最終的には成熟破骨細胞の形成が成立、増殖、活性化を促進する。この破骨細胞は骨組織を破壊すると、骨組織内に多く含まれているTGF β 、IGF、Ca⁺⁺を放出する。これらの骨組織内含有物質は癌細胞を増殖かつ活性化させる作用を持っている。また、癌細胞は増殖に伴い骨芽細胞や破骨細胞を刺激して活性化させる作用のあるPTH-rPを大量に増産させる。つまり骨破壊の促進により癌細胞が増殖し、さらに癌細胞の増殖により骨破壊が促進するという悪循環が成り立つ。そこでNITC特にCTL活性化剤(IL-12産生誘導剤、INF γ 産生誘導剤)によりTh1サイトカインのIFN γ やIL-12を誘導して破骨細胞のTRAF6を分解し、骨障害の悪循環を断ち切ることに意義がある。(図1)

NITC特にCTL活性化剤(IL-12産生誘導剤、INF γ 産生誘導剤)は内因性Th1サイトカイン(IFN γ 、IL-12)を誘導してCTLのみならずNK細胞やNKT細胞等を活性化して抗腫瘍作用を亢進せしめる治療法である(図2)。このTh1サイトカインは破骨細胞の形成に重要なTRAF6を分解する。この結果、NITC特にCTL活性化剤(IL-12産生誘導剤、INF γ 産生誘導剤)が破骨細胞の形成を抑制して骨障害を治癒することになる(図3)。なお、現在遂行されている多くの癌治療の外科手術、放射線及び抗癌剤はいずれもTh1サイトカインの産生を抑制するものであることから、これらは骨転移を悪化せしめる治療法といわざるを得ない。

[0021] NITC治療による骨転移の治療効果

乳癌、肺癌および前立腺癌で骨転移が認められた143例についてNITCを施行した結果、82例(57.3%)に有効性が認められた。また55例(38.5%)が不変であり、無効が6例(4.2%)であった。ここでの判定基準は骨シンチ、MRI、CT等の画像診断で骨転移陽性と確認されたうえで骨転移マーカーである1CTP値が治療前に対し25%以上減少した場合を有効とした。また、1CTP値が治療前に対しその増減が25%未満の症例を

不変とし、25%以上増加した症例は無効例となっている。

1) 前立腺癌の骨転移症例に対する治療効果

対象は65例で、48例(73.8%)で有効、16例(24.6%)で不変、1例(1.5%)が無効例であった。

2) 乳癌の骨転移症例に対する治療効果

乳癌の骨転移実施例は50例で、23例(46.0%)で有効、24例(48.0%)で不変、3例(6.0%)が無効例であった。

3) 肺癌の骨転移症例に対する治療効果

肺癌の骨転移実施例は28例で、1CTPによる効果判定では11例(39.3%)で有効、15例(53.6%)で不変、2例(7.1%)が無効例であった。

[0022] RANKLのシグナル伝達系としてはTRAF6を介さずに別の経路、すなわちc-Fos遺伝子によって形成されるAP-1を介しての破骨細胞形成の経路も見出されている。NITCでは前述したような治療成績が得られているがそれでも必ずしも充分とはいえなかった。すなわち、NITCで十分な量のIFN γ 、IL-12産生が得られなかったか、またTh1サイトカインの充分量の産生があってもc-Fosの経路での破骨細胞の形成が残されている場合である。その場合はc-Fosの阻害作用を有するチロシンキナーゼ阻害剤であるイレッサが有効となる。

[0023] 本発明では、この破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質、代表的にはIL-12産生誘導剤と、チロシンキナーゼ阻害剤の併用が有用である。チロシンキナーゼ阻害剤は、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制作用をもっており、このような機能をもつ物質は広く利用可能である。チロシンキナーゼ阻害剤の具体例は、ZD1839(イレッサ商品名)又はSTI571(グリベック商品名)を例示できるが、各種チロシンキナーゼ阻害剤が有効に利用できる。それらは標的分子として、HER2/neu、HER3、HER4、c-kit、PDGFR、bcr-abl、EGFR等が例示される。最も効果的な分子はEGFR又はc-kitである。チロシンキナーゼ阻害剤の投与量は、各分子標的化合物の推奨投与量に従うが、10～500mg/日の経口投与がおこなわれる。

実施例1及び2の症例はTh1サイトカインのIFN γ やIL-12が大量に産生されていた

症例であるにもかかわらず、骨転移・骨痛の改善が認められなかった症例である。こういったケースではc-Fosを介する経路により破骨細胞の形成が維持されていたと考えられ、チロシンキナーゼ阻害剤の併用が有用な結果をえた。

[0024] 本発明では、破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質、代表的にはIL-12産生誘導剤を中心として、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制作用物質(代表的にはチロシンキナーゼ阻害剤)及び／又は骨吸収の阻害剤の併用が有用である。骨吸収の阻害剤としては、ビスフォスフォネートが代表的である。ビスフォスフォネート製剤には、内服薬としてエチドロロン酸二ナトリウム200～1000mg/日(ダイドロネル:登録商標)、アレンドロン酸ナトリウム水和物5mg/日(フォサマック:登録商標、ボナロン:登録商標)、リセドロロン酸ナトリウム水和物2.5mg/日(ベネット:登録商標、アクトネル:登録商標)などがあり、注射薬としてはパミドロロン酸二ナトリウム30～45mg/日(アレディア:登録商標)、アレンドロン酸ナトリウム水和物10～20mg/日(オンクラスト:登録商標、テイロック:登録商標)、インカドロロン酸二ナトリウム10mg/日(ビスフォナール:登録商標)などがある。また、本邦未承認ではあるが内服薬としてイバンドロネート10～50mg/日(BONIVA)、クロドロネート1600～3200mg/日(Bonefos:登録商標、Ostec:登録商標)、チルドロネート240mg/日(Skelid:登録商標)などがあり、注射薬としてゾレドロネート(Zometa:登録商標)やイバンドロネート2～4mg/回などがある。

[0025] さらに本発明では、RANKL/RANK受容体の刺激を阻害するためにCox2合成阻害剤を併用することも有効である。Cox2の合成がRANKLに対する阻害サイトカインである破骨細胞形成抑制因子(OPG:Osteoprotegerin)の産生を抑制するためである。つまり、破骨細胞形成抑制因子の産生亢進物質、例えばプロスタグランジンE2合成酵素である上記Cox2合成阻害剤を併用することが有効である。Cox2合成阻害剤には、アリール酢酸系のエトドラク400mg/日(ハイペン:登録商標、オステオラック:登録商標、エトペン:登録商標、オスぺイン:登録商標、ニコナス:登録商標、ハイスラック:登録商標、ハイペラック:登録商標、ライペック:登録商標)、オキシカム系のメロキシカム10mg/日(モービック:登録商標)、その他本邦では未承認であるがセレコキシブ200mg/日(セレブレックス)、ロフェコキシブ12.5～25mg/日(バイオックス)、バルデコ

キシブ10〜20mg/日（ベクストラ）、ニメスリド等がある。

- [0026] これら4つの選択的併用は、治療初期からでもよいし、どれかを先行させても良い。具体例では、NITC療法特に癌免疫療法剤を一定期間投与後に、チロシンキナーゼ阻害剤及び／又はビスフォスフォネート及び／又はCox2合成阻害剤を併用し、劇的な臨床効果を確認した。
- [0027] 本発明では、癌免疫療法剤として、IL-12産生誘導剤に加えて、NK活性化剤又はNKT活性化剤の併用が可能である。ニゲロオリゴ糖、フコイダン等の α 1,3グルカン構造を持つ化合物の組成物製剤がNK活性化剤又はNKT活性化剤として有用である。 α 1,3グルカン構造を持つ化合物は種々知られており、この既知構造とCD3(-)CD161(+), CD3(-)CD161(+)パーフォリン産生能、CD3(+)CD161(+), CD3(+)CD161(+)パーフォリン産生能の測定を組み合わせれば当業者は容易にNK活性化剤を特定可能である。なお、CD3(+)CD161(+)はNKT細胞の受容体NKR-P1に作用することを意味する。
- [0028] 本発明の併用は、その適用法を選別することで肺ガン（肺扁平上皮ガン、肺腺ガン、小細胞肺ガン）、胸腺腫、甲状腺ガン、前立腺ガン、腎ガン、膀胱ガン、結腸ガン、直腸ガン、食道ガン、盲腸ガン、尿管ガン、乳ガン、子宮頸ガン、脳ガン、舌ガン、咽頭ガン、鼻腔ガン、喉頭ガン、胃ガン、肝ガン、胆管ガン、精巣ガン、卵巣ガン、子宮体ガン、転移性骨ガン、悪性黒色腫、骨肉腫、悪性リンパ腫、形質細胞腫、脂肪肉腫等の治療に有効である。これらの癌の骨転移を優位に抑制可能である。
- [0029] 抗ガン（化学療法）剤、放射線、あるいはステロイド併用療法を、本発明の併用に加えて行う場合には、2種類の免疫系のうち、 $\text{TNF } \alpha \rightarrow \text{IFN } \gamma \rightarrow \text{IL-12} \rightarrow \text{キラーT細胞}$ の系統が著しく障害される。そのためこれらは本発明では用いないことが好ましい。但し抗ガン剤を投与するとき、上記の免疫系を障害しない投与方法である低濃度化学療法すなわち5FU、UFT、ミフロール、フルツロン、CDDP ($5 \mu\text{g} \sim 10 \mu\text{g}$) の低濃度やタキソテールあるいはタキソール、アドリアマイシン、マイトマイシン、CPT-11などの低濃度抗ガン剤の投与法等を適用することは有用である。また同様に放射線療法において低容量照射の適用、ステロイド療法においても低濃度投与等を選択する必要がある。

[0030] 細胞および各サイトカインの測定方法を以下に例示する。

(NKT細胞の測定) (NK細胞の測定) (CD8の測定)

NKR-P1を有するNKT細胞の測定は、NKT細胞の細胞表面に特異的に存在する細胞表面抗原(CD3およびCD161)の測定により行うことができる。具体的には、末梢血中のリンパ球について、CD3が陽性でかつCD161が陽性[CD3(+)CD161(+)]の細胞を検定する。つまり、NKT細胞の細胞表面抗原であるCD3およびCD161を、モノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーを使用するTwo Color検査により測定する。ここでNKT細胞が活性化されているとは、リンパ球の中でNKT[CD3(+)CD161(+)]細胞の割合が10%以上、より好ましくは16%以上であることをいう。NKT細胞活性化能とは、NKT細胞の割合を10%以上、より好ましくは16%以上に増加せしめる機能、またはある物質を投与する前のNKT細胞の割合より更に増強せしめる機能を意味する。同様に[CD3(-)CD161(+)]とはCD3が陰性でかつCD161が陽性の細胞を検定することである。この方法はNK細胞の測定に有用である。さらにCD8(+)とはCD8が陽性の細胞を検定することである。この方法はCTL活性の測定に有用である。

[0031] 実施例ではガン患者の血液を用いて、血中細胞について細胞表面抗原であるCD3、CD161、CD8について陽性・陰性で区別し、各細胞の割合を、フローサイトメトリーを用いたTwo Color検査により常法通り測定した。このときCD3、CD161、CD8に対するモノクローナル抗体は、それぞれコールター社製又はベクトンディッキンソン社製ものを使用した。

[0032] (パーフォリン産生細胞の測定)

末梢血中のリンパ球について、細胞表面抗原であるCD3、CD161、CD8のうち2者とパーフォリンについてフローサイトメトリーを用いたThree Color検査により常法通り測定する。具体的には、採取した血液に固定液を加えて細胞を固定し、膜透過液を添加後抗パーフォリン抗体(Pharmlingen社製)を添加して反応させ、さらにPRE-Cy5標識二次抗体(DAKO社性)を添加して反応させ、ついで抗CD3-PE(Coulter 6604627)抗体および抗CD161-FITC(B-D)抗体を添加して反応させ、その後フローサイトメトリーで測定する。図・表中での略語はP又はPERと表示した。

[0033] (サイトカインを測定するための試料の調製)

まず、血液より単核球画分を分離調製する。ヘパリン加末梢血をリン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate Buffered Saline) (PBS) で2倍に希釈して混和した後、Ficoll-Conray 液 (比重1.077) 上に重層し、400Gで20分間遠沈後、単核球画分を採取する。洗浄後、10%牛胎児血清 (FBS) を加えたRPMI-1640培地を加え、細胞数を 1×10^6 個となるように調製する。得られた細胞浮遊液200 μ lにフィトヘマグルチニン (Phytohemagglutinin) (DIFCO社製) を20 μ g/mlの濃度となるように加え、96穴マイクロプレートにて5%CO₂存在下、37°Cで24時間培養し、該培養した細胞溶液中のサイトカインを測定する試料とする。

[0034] (IL-12の測定)

IL-12量の測定は自体公知の臨床、生化学的検査を利用できるが、R&D SYSTEMS社やMBL社より入手することのできる酵素免疫測定法 (ELISA) による測定キットが使用される。ここではR&D SYSTEMS社の測定キットを用いた。実際には96穴マイクロプレートの各穴に測定用希釈液 Assay Diluent RD1Fを50 μ l、標準液 (standard) または前記サイトカイン測定用試料の調製法で調製した試料を200 μ lずつ分注した後、室温にて静置して2時間反応させた。その後、西洋わさびパーオキシダーゼ (horse radish peroxidase) (HRP) 標識抗IL-12抗体を200 μ lずつ分注し2時間室温で静置した。各穴の反応液を除去し3回洗浄後、発色基質溶液を200 μ lずつ分注し、20分間室温静置後、酵素反応停止溶液を50 μ lずつ分注した。550nmを対照として450nmにおける各穴の吸光度をEmax (和光純薬株式会社製) にて測定した。IL-12量は、pg/mlとして表される。ここでIL-12産生誘発能とは、末梢血単核球画分が刺激により産生するIL-12量を、7.8pg/ml以上に増強せしめる機能、またはある物質を投与する前のIL-12産生量より増強せしめる機能を意味する。

[0035] (IFN γ の測定)

IFN γ の測定は、BioSource Europe S.社のIFN γ EASIAキットを用いて、酵素免疫測定法 (EIA法) で測定した。実際には96穴マイクロプレートの各穴に標準液 (standard) または上記調製した試料を2倍希釈したものを50 μ lずつ分注し、HRP標識抗IFN- γ 抗体を50 μ lずつ分注し更に振盪しながら2時間室温で反応させた。各穴の反応液を除去し3回洗浄後、発色基質溶液を200 μ lずつ分注し、振盪しながら

15分間室温で反応させ、酵素反応停止溶液を50 μ lずつ分注した。630nmを対照として450nmおよび490nmにおける各穴の吸光度をEmax (和光純薬株式会社製)にて測定した。IFN γ 量は、IU/mlとして表される。

[0036] (血管新生阻害能の測定)

(血管内皮細胞増殖因子/VEGFと塩基性繊維芽細胞増殖因子/bFGF及び血管新生阻害因子エンドスタチン/endostatinの測定) 市販キットの各酵素免疫固相法 (ELISA: enzyme linked immuno sorbent assay) (ACCUCYTE Human VEGF, ACCUCYTE Human bFGF, ACCUCYTE Human Endostatin: CYTIMMUNE Sciences Inc.)で血清中濃度を測定した。

[0037] (骨転移の測定)

骨転移の抑制効果の確認は、骨転移マーカーである1CTPの変異によった。1CTPは、骨吸収の特異的マーカーとして実用化されており、例えばOrion社製の1CTPキット (Clin. Chem. 39:635-640, 1993)がある。これは脱灰ヒト大腿骨を精製バクテリアルコラゲナーゼによってin vitroにて分解精製したものを抗原 (1CTP)として用い、ウサギに免疫して抗体を作製し、抗原を¹²⁵I標識し、競合型ラジオイムノアッセイ (RIA)としたものである。その測定感度は、0.5ng/ml以下であり、測定は少なくとも50ng/mlまで可能である。また、25歳から72歳までの287例の血中平均値は、3.00 \pm 1.12ng/ml (平均 \pm S. D.)である。血中1CTPは、これまで骨転移や副甲状腺機能亢進症などの各種代謝性骨疾患において異常値を示し、また治療経過とも相関するものと認知されてきた。1CTPを測定するためのキットは、既知の臨床診断キットであり、中外診断科学株式会社製造によるRIAキット、ピリジノリン1CTP「中外」がある。具体的には、標識として¹²⁵Iを利用したラジオイムノアッセイ試薬であるが、その他にも自体公知の酵素標識を利用したエンザイムイムノアッセイ試薬、蛍光物質を利用した蛍光イムノアッセイ試薬等も当然に利用可能である。測定手技は、販売キットに詳述されているので省略する。文献的には“核医学30:1411-1417, 1993”を参照できる。1CTP測定のための代表的標準曲線も、キットに説明されている。最低検出感度は0.5ng/ml以下である。また、骨転移としてのマーカーとして用いる場合のカットオフ値は、4.5ng/mlである。

[0038] なお、臨床検査に用いた各マーカーは何れも市販品を用い、各推奨の方法により測定値を示した。表示される略字は各一般的な表示方法によった。

[0039] 患者の効果判定は、次のCR(完全寛解)、PR(部分寛解)、LNC(長期不変)、SNC(短期不変)、PD(病状進行)の5段階判定を行った。また、各癌種での奏効率とは、各癌種の全症例中のCR、PR、LNC、SNC、PDの割合を示す。

実施例

[0040] 以下に、実施例を用いて本発明を具体的に説明するが、本発明は本実施例に限定されるものではない。

新免疫療法(NITC)として進行末期癌症例に対し治療を行ってきた。このNITCは β -1,3グルカンの投与で内因性TNF α 、IFN γ 、IL-12を誘導してCTL(キラーT細胞)を活性化し、かつ α -1,3グルカンの投与でNKおよびNKT細胞の活性化をはかると共にベターシャークの経口投与で血管新生阻害をはかるBRM療法である。患者には、癌免疫療法剤、IL-12産生誘発剤、サメ軟骨(セイシン企業)、及び α 1,3構造をもつ糖類等を、各推奨処方により投与された。また、IL-12産生誘導剤として、ILX(東西医薬)、ILY(セイシン企業)、クレスチン(三共)、イミュートル(NBG)等を患者の症状により、単独又は併用して投与がなされた。

[0041] 実施例1

(図4)62歳 前立腺癌で坐骨転移例

前立腺癌で坐骨転移の診断を受け、カソデックス、リュープリンのホルモン療法を受けていた。200X年6月11日よりNITCを開始した。前立腺癌のマーカーであるPSA、PAPについてはNCの判定であったが、IFN γ およびIL-12の十分な活性を得られているにもかかわらず、骨転移マーカーである1CTPは上昇し続けていた。200X年9月18日には激しい腰痛と左股関節痛と臀部(坐骨転移)の痛みが出現しモルヒネ(MSコンチン40mg/日)を使っていた。200X年10月29日よりイレッサ1T(250mg/日)を開始する。イレッサ投与後2ヶ月目で腰痛、左子関節痛及び臀部の痛みが軽減したのでMSコンチンの投与が20mg/日まで減少してきた。そこでイレッサの投与量を250mg/隔日に変更したにもかかわらず、PSA及びPAPはその後著明に低下、1CTPも上昇が停止し減少傾向となった。次の年7月22日より仙骨部に放射線療法を併用しPSAと

PAPは正常化し1CTPも著明に低下した。

[0042] 実施例2

(図5) 48歳 前立腺癌 多発骨転移例

NITC単独治療開始後、1CTPが低下、PSA、PAPも小康状態であったが、200X年5月頃からPSAと1CTPが著明に増加し全身骨痛が激しくなりモルヒネ240mg/日でも痛みが抑制できなくなってきた。200X年7月27日よりリュープリン(ホルモン療法)を開始したが痛みは減少しなかった。200X年8月17日よりイレッサ1T(250mg/日)を開始した。その結果、全身骨痛は著明に減少した。その後イレッサは250mg/隔日、250mg/3日と投与量を減らしたが痛みは全く認めず、モルヒネも全く使用する必要が無くなった。現在は痛みが出現した際にイレッサを痛み止めとして一時的に経口投与するのみである。痛み止めとしてはモルヒネよりもイレッサの方が効果的であった。

産業上の利用可能性

[0043] 以上説明したように、本発明のがんの骨転移の抑制剤によれば、局所、全身等に関係なく骨転移を抑制可能であることが示唆された。また、本発明のがんの骨転移の抑制剤により、骨障害による激しい疼痛を和らげ、疼痛による患者の運動抑制、日常生活の障害を防ぐことができることが示唆された。

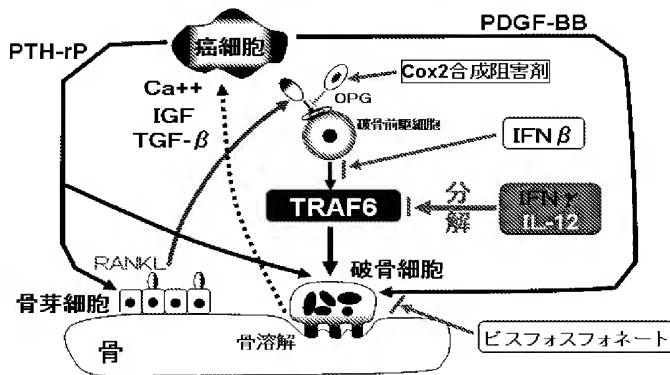
請求の範囲

- [1] 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又はCox2合成阻害剤を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤。
- [2] 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質としてのIL-12産生誘導剤と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質としてのチロシンキナーゼ阻害剤及び／又は骨吸収の阻害剤としてのビスフォスフォネート及び／又はRANKL／RANK受容体の刺激を阻害するためにCox2合成阻害剤を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤。
- [3] 破骨細胞の活性化情報伝達分子TRAF6の分解による破骨細胞の活性化阻害作用物質と、破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への分化の抑制物質及び／又は骨吸収の阻害剤及び／又は破骨細胞形成抑制因子の産生亢進物質を併用することを特徴とするがんの骨転移の抑制剤。
- [4] チロシンキナーゼ阻害剤が、以下の少なくとも1の受容体に対する選択的標的作用を有する請求の範囲第1〜3項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤。
HER2/neu、HER3、HER4、c-kit、PDGFR、bcr-abl、EGFR
- [5] IL-12産生誘導剤が、 β 1,3/1,6グルカン構造を有する物質である請求の範囲第1〜4項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤。
- [6] 請求の範囲第1〜5項のいずれかに記載のがんの骨転移の抑制剤による、がんの骨転移の予防治療方法。

[図1]

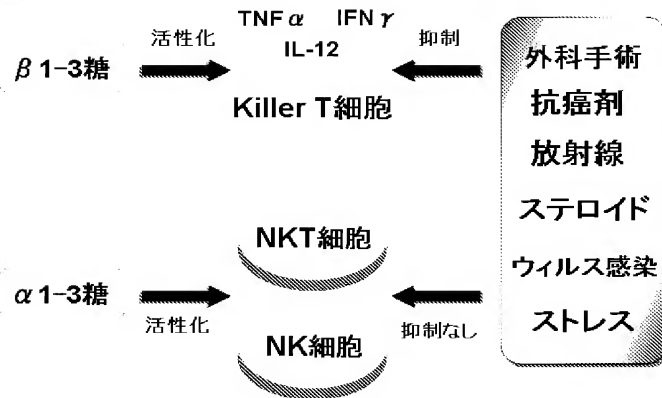
<図-1>

破骨細胞の形成



[図2]

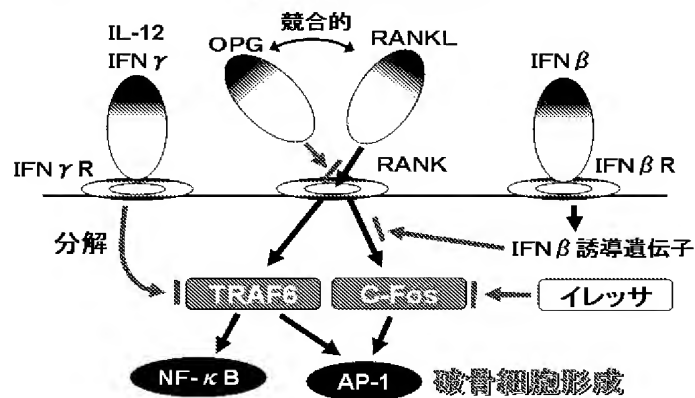
<図-2>



[図3]

<図-3>

破骨細胞の形成



<図-4> O.K. 62y.o. M 前立腺癌 坐骨転移



K.H. 48y.o. M 前立腺癌 骨(多発性)転移

● 1CT (10⁶ng/ml)
● PA (ng/ml)
— PAP (ng/ml)

90
80
70
60
50
40
30
20
10
0

0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72 78

1997.5.24 LFT 2000.7.15

2002.7.27
リュウブア増給
1/M

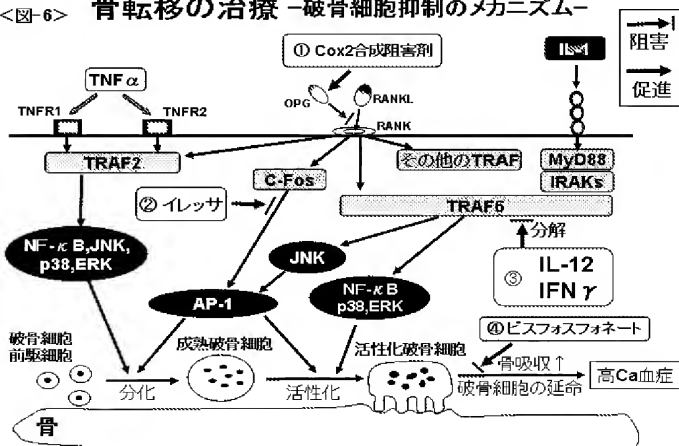
2002.8.17
イレッサ増給

2003.9.6 1/M

40
35
30
25
20
15
10
5
0

[図6]

＜図-6＞ 骨転移の治療－破骨細胞抑制のメカニズム－



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000527

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61K45/06, A61P35/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61K45/06, A61P35/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2001-81047 A (Akikuni YAGITA), 27 March, 2001 (27.03.01), Full text & JP 10-139670 A & EP 844002 A & US 2002/055489 A & US 2002/064522 A	1-5
Y	JP 10-147534 A (Akikuni YAGITA), 02 June, 1998 (02.06.98), Full text & JP 2001-048795 A & CN 1185319 A & TW 577745 A	1-5
Y	Lesley J. Murray et al., SU11248 inhibits tumor growth and CSF-1R-dependent osteolysis in an experimental breast cancer bone metastasis model, Clinical & Experimental Metastasis, Vol.20, pages 757 to 766, 2003	1-5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search
04 March, 2005 (04.03.05)

Date of mailing of the international search report
22 March, 2005 (22.03.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000527

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Hisanori UEHARA et al., Effects of Blocking Platelet-Derived Growth Factor-Receptor Signaling in a Mouse Model of Experimental Prostate Cancer Bone Metastases, Journal of the National Cancer Institute, Vol.95, No.6, 2003	1-5
Y	Mary Ann C. Sabino et al., Simultaneous Reduction in Cancer Pain, Bone Destruction, and Tumor Growth by Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2, Cancer Research, Vol.62, pages 7343 to 7349, 2002	1-5
A	Janet E. Brown et al., Therole of biphosphonates in breast and prostate cancers, Endocrine-Related Cancer, Vol.11, pages 207 to 224, 2004	1-5
A	Katharine Walker et al., Disease modifying and anti-nocieptive effects of the bisphosphonate, zoledronic acid in a model of bone cancer pain, Pain, Vol.100, pages 219 to 229, 2002	1-5
A	WO 2002/024228 A (Center for Advanced Science and Technology Incubation, Ltd.(CASTI)), 26 March, 2002 (26.03.02), Full text & AU 2001088094 A	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000527

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 6 pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K 45/06, A61P 35/04		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K 45/06, A61P 35/04		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2001-81047 A (八木田 旭邦) 2001. 03. 27, 全文 & JP 10-139670 A & EP 844002 A & US 2002/055489 A & US 2002/064522 A	1-5
Y	JP 10-147534 A (八木田 旭邦) 1998. 06. 02, 全文 & JP 2001-048795 A & CN 1185319 A & TW 577745 A	1-5
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 04. 03. 2005	国際調査報告の発送日 22.03.2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 八原 由美子	4 C 9 2 6 1
電話番号 03-3581-1101 内線 3451		

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Lesley J. Murray et al., SU11248 inhibits tumor growth and CSF-1R-dependent osteolysis in an experimental breast cancer bone metastasis model, Clinical & Experimental Metastasis, Vol. 20, p. 757-766, 2003	1 - 5
Y	Hisanori Uehara et al., Effects of Blocking Platelet-Derived Growth Factor-Receptor Signaling in a Mouse Model of Experimental Prostate Cancer Bone Metastases, Journal of the National Cancer Institute, Vol. 95, No. 6, 2003	1 - 5
Y	Mary Ann C. Sabino et al., Simultaneous Reduction in Cancer Pain, Bone Destruction, and Tumor Growth by Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2, Cancer Research, Vol. 62, p. 7343-7349, 2002	1 - 5
A	Janet E. Brown et al., The role of bisphosphonates in breast and prostate cancers, Endocrine-Related Cancer, Vol. 11, p. 207-224, 2004	1 - 5
A	Katharine Walker et al., Disease modifying and anti-nociceptive effects of the bisphosphonate, zoledronic acid in a model of bone cancer pain, Pain, Vol. 100, p. 219-229, 2002	1 - 5
A	WO 2002/024228 A (株式会社先端科学技術インキュベーションセンター) 2002. 03. 26, 全文 & AU 2001088094 A	1 - 5

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 6 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲6は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。